

## HAIR GROWTH AGENT

**Publication number:** JP2002293720

**Publication date:** 2002-10-09

**Inventor:** OKA SHUICHI; YAMAZAKI YUKINAE; IMAMURA TORU; ITO CHIKAKO; FUJITA YASUKO; YAMAMOTO YUKIORI; SUZUKI SATOSHI; SAITO YUKO

**Applicant:** NAT INST OF ADV IND & TECHNOL; POLA CHEM IND INC

**Classification:**

**- International:** C12N15/09; A61K8/00; A61K8/64; A61K38/00; A61P17/14; A61Q5/00; A61Q7/00; C07K7/06; C12R1/19; C12N15/09; A61K8/00; A61K8/30; A61K38/00; A61P17/00; A61Q5/00; A61Q7/00; C07K7/00; C07K7/00; C12N15/09; (IPC1-7): C07K7/06; C12N15/09; A61K7/06; A61K38/00; A61P17/14; C12R1/19

**- European:**

**Application number:** JP20010101016 20010330

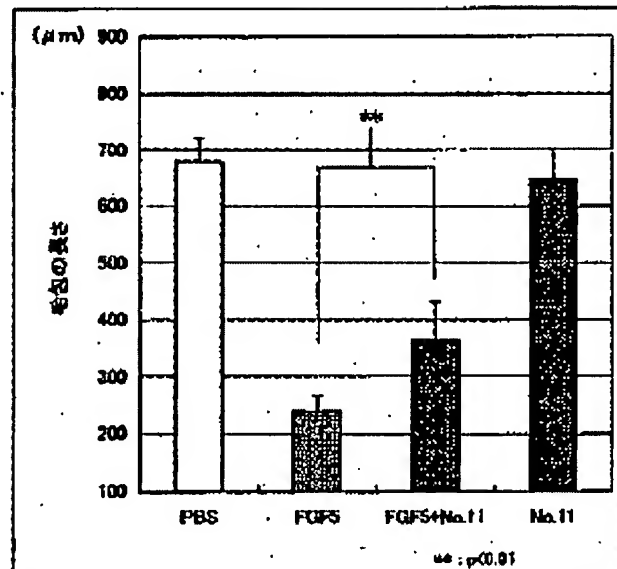
**Priority number(s):** JP20010101016 20010330

Report a data error here

### Abstract of JP2002293720

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a hair growth agent having effectiveness, especially a hair growth agent suitably usable for a person with suppressed growth of the hair caused by a fibroblast growth factor 5(FGF-5).

**SOLUTION:** This hair growth agent comprises a polypeptide composed of a part of the FGF-5 and having an activity for inhibiting suppressing actions of the FGF-5 on the growth of the hair, e.g. a polypeptide composed of an amino acid sequence represented by sequence number 1 (refer to the specification) or an amino acid sequence in which one or several amino acids are substituted, deleted, inserted or added in the amino acid sequence and having an activity for inhibiting the suppressing actions of the FGF-5 on the growth of the hair.



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-293720

(P2002-293720A)

(43) 公開日 平成14年10月9日 (2002.10.9)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	データベース <sup>*</sup> (参考)
A 6 1 K 7/06		A 6 1 K 7/06	4 B 0 2 4
38/00		A 6 1 P 17/14	4 C 0 8 3
A 6 1 P 17/14		C 0 7 K 7/06	4 C 0 8 4
// C 0 7 K 7/06		C 1 2 R 1:19	4 H 0 4 5
C 1 2 N 15/09	Z N A	A 6 1 K 37/02	

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 10 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-101016(P2001-101016)

(22) 出願日 平成13年3月30日 (2001.3.30)

(71) 出願人 301021533

独立行政法人産業技術総合研究所

東京都千代田区霞が関1-3-1

(71) 出願人 000113470

ポーラ化成工業株式会社

静岡県静岡市弥生町6番48号

(72) 発明者 岡 修一

茨城県つくば市東1丁目1番3 経済産業  
省産業技術総合研究所 生命工学工業技術  
研究所内

(74) 代理人 100089244

弁理士 遠山 勉 (外2名)

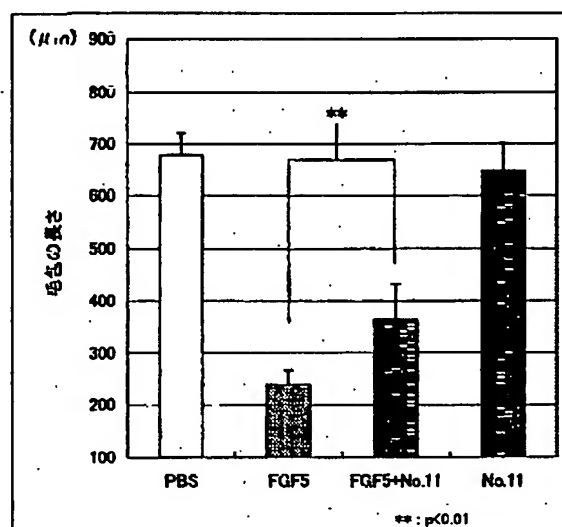
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 育毛剤

(57) 【要約】

【課題】 実効性のある育毛剤、特に線維芽細胞成長因子5 (FGF-5) が原因で毛の成長が抑制されている人にとって、好適に使用し得る育毛剤を提供する。

【解決手段】 FGF-5の一部からなるポリペプチドであって、毛の生育に対するFGF-5の抑制作用を阻害する活性を有するポリペプチド、例えば、配列番号1に示すアミノ酸配列、又は同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、又は付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、毛の生育に対するFGF-5の抑制作用を阻害する活性を有するポリペプチドを育毛剤の有効成分とする。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 線維芽細胞成長因子5の一部からなるポリペプチドであって、毛の生育に対する線維芽細胞成長因子5の抑制作用を阻害する活性を有するポリペプチドを含有する育毛剤。

【請求項2】 前記ポリペプチドが、配列番号1に示すアミノ酸配列、又は同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、又は付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、毛の生育に対する線維芽細胞成長因子5の抑制作用を阻害する活性を有するポリペプチドである請求項1記載の育毛剤。

【請求項3】 請求項1又は2記載の育毛剤の1種又は2種以上を含有する頭髮用の化粧料。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、育毛剤に関する。より詳しくは、線維芽細胞成長因子5が原因で毛の成長が抑制されている人にとって、好適な育毛剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】育毛剤の市場における需要は高く、育毛効果を有する物質の新規探索について、研究開発がなされている。しかし、実効性のある育毛剤に対する要望は未だ高い。

【0003】一方、線維芽細胞成長因子5（以下、「FGF-5」ともいう）は、毛成長への関与が知られている。例えば、毛包成長期前半のマウス皮下にFGF-5を投与すると、毛成長阻害を反映して皮膚の黒化抑制が起こることが報告されている（Suzuki S, Ota Y, Ozawa K, Imamura T. J. Invest. Dermatol. 114:456-463, 2000）。

【0004】また、FGF-5のアミノ酸配列およびmR.N.Aの塩基配列は、例えばヒト、マウス及びラットにおいて明らかにされている（Zhan X. et al., Mol. Cell. Biol. 8:3487-3495, 1988; Haubo. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8022-8026, 1990; Hattori Y. et al., Biochim. Biophys. Acta 1306:31-33, 1996）。

【0005】また、FGF-5の近類であるFGF-5Sは、FGF-5の機能をアンタゴナイズすることにより、成長期中にFGF-5が機能することを防ぐことが知られている（Suzuki S, Ota Y, Ozawa K, Imamura T. J. Invest. Dermatol. 114:456-463, 2000; Ozawa K, Suzuki S, Asada M, et al. J. Biol. Chem. 273: 29262-29271, 1998; Suzuki S, Kato T, Takimoto H, et al. J. Invest. Dermatol. 111: 963-972, 1998）。

【0006】しかし、FGF-5及びFGF-5Sの詳細な毛成長への関与については、なお研究の余地がある。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、実効性のある育毛剤の提供、特にFGF-5が原因で毛の成長が抑制されている人にとって、好適に使用し得る育毛剤を提供することを課題とする。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決するために研究を重ねた結果、FGF-5の一部のアミノ酸配列を有する部分ペプチドの中に、FGF-5の毛の生育に対する抑制作用を阻害する活性を有するポリペプチドがあることを見出し、本発明を完成させるに至った。すなわち、本発明は、以下のとおりである。

【0009】（1）FGF-5の一部からなるポリペプチドであって、毛の生育に対するFGF-5の抑制作用を阻害する活性を有するポリペプチドを含有する育毛剤。

（2）前記ポリペプチドが、配列番号1に示すアミノ酸配列、又は同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、又は付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、毛の生育に対するFGF-5の抑制作用を阻害する活性を有するポリペプチドである（1）の育毛剤。

（3）前記育毛剤の1種又は2種以上を含有する頭髮用の化粧料。

## 【0010】

【発明の実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。

## 【0011】＜1＞本発明の育毛剤

本発明の育毛剤は、FGF-5の一部からなるポリペプチドであって、毛の生育に対するFGF-5の抑制作用を阻害する活性を有するポリペプチド（以下、「FGF-5部分ペプチド」ともいう）を含有する。

【0012】FGF-5部分ペプチドは、細胞、例えばBALB/c-3T3細胞に対するFGF-5の増殖促進作用をアンタゴナイズする性質を示す。この性質によって、FGF-5部分ペプチドは、FGF-5の毛成長に対する抑制作用を阻害する活性を示すことを、本発明者らは見出した。

【0013】本発明のFGF-5部分ペプチドは、FGF-5のアミノ酸配列の一部のアミノ酸配列を有し、かつ、毛の生育に対するFGF-5の抑制作用を阻害する活性を有する限り特に制限されないが、具体的には例えば、配列番号1のアミノ酸配列を有するポリペプチド（以下、「ペプチドNo.11」ともいう）が挙げられる。また、FGF-5部分ペプチドは、FGF-5の毛の生育に対する抑制作用を阻害する活性を有する限り、配列番号1のアミノ酸配列において、1又は複数のアミノ酸残基が置換、欠失、挿入、又は付加されたアミノ酸配列を有するポリペプチドであってもよい。本発明において「1又は複数」とは、1～5個、好ましくは1～3個、特に好ましくは1～2個である。

【0014】FGF-5部分ペプチドは、FGF-5のアミノ酸配列、及びペプチドNo.11のアミノ酸配列、及びそれらをコードするDNAの塩基配列が明らかであるので、これらの配列に基づいて、遺伝子組み換え技術を利用して作製することができる。また、FGF-5部分ペプチドは、アミノ酸配列に基づいて化学合成することによっても、取得することができる。

【0015】FGF-5部分ペプチドが由来するFGF-5としては、部分ペプチドが毛の生育に対するFGF-5の抑制作用を阻害する活性を有する限り特に制限されないが、例えばヒト、マウス及びラット由来のFGF-5が挙げられる。これらの中では、ヒト由来のFGF-5が好ましい。

【0016】ヒト、マウス又はラット由来のFGF-5をコードするDNAは、公知の塩基配列 (Zhan X. et al., Mol. Cell. Biol. 8:3487-3495, 1988; Haubo. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8022-8026, 1990; Hattori Y. et al., Biochim. Biophys. Acta 1306:31-33, 1996) に基づいて、PCR法又はハイブリダイゼーション等の当業者によく知られた遺伝子のクローニング法によって、染色体DNA又はcDNAライブラリーから、取得することができる。FGF-5は、fgf-5遺伝子によってコードされている。

【0017】具体的には例えば、FGF-5をコードするcDNAは、FGF-5をコードするcDNAのオープンリーディングフレームを含むプラスミドpLTR122 (Zhan X. et al., Mol. Cell. Biol. 8:3487-3495) を鋳型として、配列番号2及び配列番号3に示すプライマーセットを用いたPCRによって取得することができる (Zhan X. et al., Mol. Cell. Biol. 8:3487-3495, 1988)。増幅されたフラグメントは、適当な発現ベクター、例えば、pBluescript SK+ (Stratagene社製) にクローニングし、塩基配列を確認し、制限酵素 NdeI で切断した後、pET-3cベクター (Novagen社製) のNdeI 部位に挿入する (Studier et al., Methods Enzymol. 185:60-89, 1990)。この組み換えプラスミドを組み込んだBL21(DE3)pLysS系大腸菌を培養することにより、FGF-5を発現させることができる (Clement et al., Oncogene 8:1311-1316, 1993)。

【0018】本発明に用いるペプチドNo.11以外のFGF-5部分ペプチドは、例えば、FGF-5をコードするPCR法によって、FGF-5をコードするDNAから、任意の部分ペプチドをコードするDNAを調製し、それらのDNAがコードするポリペプチドについて、FGF-5のBALB/c-3T3細胞に対する増殖促進作用に対する阻害の程度を調べ、阻害作用を有するポリペプチドを選択することによって、取得することができる。阻害活性を調べるために用いるFGF-5は、Sigma社等からの市販の試薬として購入できる。また、FGF-5をコードするDNAを用いた遺伝子組み換え技術によって、調製することもできる。

【0019】＜2＞本発明の頭髮用の化粧料  
本発明の頭髮用の化粧料は、上記FGF-5部分ペプチドの1種又は2種以上を育毛剤として配合したものである。配合量は、化粧料全量に対して、0.001～5重量%であることが好ましい。配合量が0.001重量%未満では、十分な発毛促進効果が期待できず、5重量%を越えても効果は頭打ちとなり経済的でないことがある。

【0020】本発明の頭髮用の化粧料の剤型は、特に限定されるものではなく、ヘアトニック、ヘアローショ

ン、ヘアクリーム、ヘアオイル、ヘアリキッド、ヘアスプレー、ヘアムース、ヘアトリートメント、スカルプトリートメント、シャンプー、リンス、ボマード等が挙げられる。

【0021】また、本発明の発毛・育毛料には、通常、発毛・育毛料に適用される炭化水素類、ロウ類、油脂類、エステル類、高級脂肪酸、高級アルコール、界面活性剤、香料、色素、防腐剤、抗酸化剤、紫外線防御剤、アルコール類、pH調整剤、及び各種目的に応じた種々の薬効成分などが適宜選択されて調製される。更に、本発明のFGF-5部分ペプチド以外の発毛、育毛成分、例えば、卵胞ホルモン、抹消血管血流促進剤、局所刺激剤、角質溶解剤、抗脂漏剤、殺菌剤、代謝賦活剤、酸素活性阻害剤、消炎剤、栄養剤、保湿剤、具体的には例えば、エルゴステロール誘導体、ヒドロキシベンズアルデヒド、スチグマスタノール配糖体、スチグマステロール配糖体、アセトフェノン誘導体、ステロイド誘導体、前胡抽出物、柑橘類種子抽出物、サポニン、シリング誘導体、アセトフェノン誘導体等を、FGF-5部分ペプチドと併せて用いることもできる。

【0022】

【実施例】以下実施例等により、本発明を更に具体的に説明する。

【実施例1】FGF-5の調製

fgf-5組み換え大腸菌からFGF-5を抽出、精製した。

【0023】＜1＞fgf-5組み換え大腸菌の培養  
FGF-5をコードするcDNAフラグメントは、FGF-5をコードするcDNAのオープンリーディングフレームを含むプラスミドpLTR122を鋳型として、配列番号2及び配列番号3に示すプライマーセットを用いたPCRによって増幅した。増幅されたフラグメントは、pBluescript SK+にクローニングし、塩基配列を確認し、制限酵素 NdeI で切断した後、pET-3cベクターのNdeI 部位にした。この組み換えプラスミドを組み込んだBL21(DE3)pLysS系大腸菌を50ml LB培地にて、37℃で一晩、振盪培養した (140rpm)。

【0024】上記のようにして前培養した培養物を、10mlづつ、500mlのLB培地が入った2Lフラスコ4本に接種し、培地のOD<sub>600</sub>値が0.4になるまで約3時間培養した。イソプロピルー1-チオβ-D-ガラクトシドを添加し、さらに3時間培養を続けた。培養後、培地を6000rpm、4℃で15分間遠心分離し、菌体ペレットを4℃の10ml TEG (組成25mM Tris-Cl(pH8.0), 50mM EDTA, 1%G lucose) に懸濁させ、-80℃で保管した。

【0025】＜2＞FGF-5の精製

菌体懸濁液を融解し、リゾチームを終濃度が10μg/mlとなるように添加し、低温室で30分、ローテータで穏やかに揺とうした。溶菌液を5mlずつ15mlチューブに分注し、氷上で超音波破碎機にかけ、菌体を破碎した。菌体破碎液を、12000rpm、4℃で60分

遠心分離した。低温室で、上清132mlに、3.857gのNaClを、徐々に加えて溶解させた(終濃度0.5M)。さらに、ヘパリン・セファロースを加え、低温室で3時間〜一晚、穏やかに攪拌した。ヘパリン・セファロースを、6倍量の0.5M NaCl/10mMトリス-HClで、2回遠心、洗浄した後、カラムに充填した。

【0026】以降の操作も、低温室にて行った。前記カラムを、5mlの0.7M NaCl/10mMトリス-HClで、45回洗浄した。最後の洗浄液のOD<sub>280</sub>値を測定し、OD値が落ち切っていることを確認した。

【0027】次に、溶出液のNaCl濃度を段階的に高めて、ヘパリン・セファロースに吸着しているタンパク質を溶出させた(1.0M 4ml、1.2M 4ml、1.4M 4ml、1.6M 4ml)。溶出液は、0.5mlずつ分画した。各フラクションのOD<sub>280</sub>を測定し、ピークの約4本を回収した。尚、上記分画によってピークは3つ出現するので、真ん中のピークを回収した。回収された溶出画分を、低温室にて、PBS(リン酸緩衝塩溶液)2Lに対して一晚透析した後、-20℃で保存した。

【0028】上記のようにして得られたタンパクの定量は、Protein Assay Kit (BIO-LAD)を用いて、クマシーブリリアントブルーのOD<sub>595</sub>における吸光度を測定することにより行った。

【0029】得られた精製タンパク質がFGF-5であることは、後述するBALB/c-3T3細胞に対する細胞分裂促進活性により確認した。

【0030】

【実施例2】FGF-5部分ペプチドの調製

FGF-5部分ペプチドは、ペプチド合成機を用いた化学合成法により合成し、高速液体クロマトグラフィー等により精製した。ペプチドのアミノ酸配列はプロテインシーケンサーにより解析し、最終純度80%以上の標品を取得した。

【0031】

【実施例3】FGF-5のBALB/c-3T3細胞増殖効果に対するFGF部分ペプチドの作用

上記のようにして得られたペプチドNo.11について、FGF-5のBALB/c-3T3細胞分裂促進活性に対する作用を調べた。

【0032】FGF-5のBALB/c-3T3細胞分裂促進活性は、以下のようにして測定した。-80℃で保存しておいたBALB/c-3T3細胞ストックを解凍し、75mLフラスコに播種し、約3日間、コンフルエントになるまで培養した。培養液を、DMEM(ダルベッコ改変イーグル培地)に10% FBS(仔ウシ胎児血清)500μlづつを各ウェルに入れた48穴プレートに、15000細胞/ウェルで播種し、37℃、5% CO<sub>2</sub>下で24時間インキュベートした。培地を低血清培地(0.3% FCS含有DMEM)500μlに交換し、72時間インキュベートした後、FGF-5を、終濃度1ng/ml、10ng/ml、100ng/ml、1000ng/mlとなる

ように培地に添加し、15時間インキュベートした。細胞分裂促進活性は、培地に[メチル-<sup>3</sup>H]チミジンを加え、DNA合成速度を測定することにより、測定した。

【0033】FGF-5とともに、ペプチドNo.11を終濃度10<sup>-6</sup>M〜10<sup>-3</sup>Mとなるように添加したところ、10<sup>-4</sup>M以上の濃度で、FGF-5のBALB/c-3T3細胞増殖効果を抑制した。具体的な結果は、10<sup>-5</sup>Mで0%、10<sup>-4</sup>Mで75%、10<sup>-3</sup>Mで100%の阻害率であった。

【0034】

【実施例4】FGF-5毛成長阻害作用に対するFGF部分ペプチドの作用

毛包成長期前半のマウス皮下にFGF-5を投与すると、毛成長阻害を反映して皮膚の黒化抑制が起こる。FGF-5部分ペプチドNo.11のFGF-5毛成長阻害作用への影響を、皮膚のL値測定および毛包の長さの測定により検討した。

【0035】〔方法〕以下に示す方法によって、ネガティブコントロールとしてFGF-5非投与マウス群(以下、「PBS投与群」ともいう)、ポジティブコントロールとしてFGF-5投与マウス群(以下、「FGF-5投与群」ともいう)、FGF-5とペプチドNo.11混合投与群(以下、「FGF-5+No.11投与群」ともいう)、ペプチドNo.11単独投与群(以下、「No.11投与群」ともいう)を作製した。各群とも、8週齢のC3H/He雄性マウスを、10匹づつ使用した。これらのマウスの毛包が休止期であることを、皮膚色から確認した。試験開始日にマウスの体重を測定した後、群分けをし、マウスの背部の毛を手で抜き、同部位の毛包を成長期に誘導した。

【0036】成長期誘導の翌日、各群のマウスの尾てい骨付近に投与試料の皮下注射を行った。投与部位には、投与部位を毎回同じ場所にするために、油性マジックで印をつけた。PBS投与群には、一回につき一匹のマウスに50μl PBSを注射した。FGF-5投与群には、一回につき一匹のマウスに5μg FGF-5を50μl PBSに溶解して注射した。FGF-5+No.11投与群には、一回につき一匹のマウスに、5μg FGF-5+5μg No.11を50μl PBSに溶解して注射した。No.11投与群には、一回につき一匹のマウスに、5μg No.11を50μl PBSに溶解して注射した。この投与操作は、7日間、毎日一回づつ繰り返した。

【0037】上記の操作を終了した翌日、体重測定後、各群マウスの投与部位のL値を測定した。ここで、L値は、色差計、chroma meter CR-200(Minolta製、Tokyo, Japan)を用いて測定した。その後、マウスを頸ついで脱臼にて殺し、背部全体の写真を撮影した。また、投与部位の組織を切り出し、組織断片を観察し、毛包の長さを測定した。

【0038】毛包の長さの測定は、以下に示す手順によって行った。各群ともマウス10匹について測定を行ったが、PBS投与群は一例切片採取に失敗したため、9匹について行った。

【0039】投与部位の皮膚を採取し、ホルマリン固定

後パラフィン包埋した。ミクロトームを使用して、パラフィンブロックより厚さ4 $\mu$ mの組織切片を切り出した。マウスごとに3切片を切り出した。ここで各切片に同じ毛包が含まれないようにするために、各切片の切り出しは、厚さ100 $\mu$ m以上の距離を置いて行った。切り出した組織切片をHE（ヘマトキシリン-エオシン）染色し、バルサムに封入した。封入切片を光学顕微鏡下で観察し、Photograb-2500（FUJI FILM）ソフトを用いて組織像全体をパソコンに取り込んだ。マイクロメーターを同様に取り込んでスケールとした。組織切片の顕微鏡写真を図1に示す。

【0040】取り込んだ組織画像における毛包の長さを、IPLab<sup>TM</sup>（SOLUTION SYSTEMS）ソフトの長さ解析機能を用いて測定した。組織像全体に含まれる毛包のう

ち、毛根から表皮まで毛包が連続して確認できるもののみ測定した。測定した部位を、図1中、矢印で示す。各切片から約10本の毛包を測定し、マウスごとに計約30本を測定した。

#### 【0041】〔結果〕

##### （1）投与部位の皮膚色の変化

各群マウスにおける10例中5例のマウスの背部の写真を図2に示す。図2中、上から、PBS投与のマウス群、FGF-5投与のマウス群、FGF-5+No.11投与のマウス群、No.11投与のマウス群の結果を示す。投与部位の皮膚色変化（黒化の程度）の観察結果を表1に示す。

#### 【0042】

##### 【表1】

表1

群	黒化の程度
PBS	10例中10例とも投与部位は周りの皮膚と同等の黒化を示した。
FGF-5	投与部位の黒化が10例中10例とも、明らかに抑制された
FGF-5+No.11	FGF-5による投与部位の黒化抑制が阻害された個体（図1では左の3例）と、阻害されなかった個体が存在した（右の2例） 10例中、前者：後者＝6：4であった
No.11	10例中10例とも投与部位は周りの皮膚と同等の黒化を示した。

【0043】（2）投与部位の皮膚色の変化（明度）  
各群マウスにおける投与部位の色差計による明度の測定結果を図3に示す。毛包が成長すると、毛に含まれるメラニン色が皮膚を通して透けて見えるため、皮膚の色は黒化し、L値が下降する。ネガティブコントロール（PBS投与群）に比べてポジティブコントロール（FGF-5投与群）では有意にL値が上昇し、FGF-5が皮膚の黒化を抑制していることを確認した。

【0044】FGF-5+No.11の混合投与群では、ポジティブコントロールに比べて有意にL値が下がっていることが確認された。また、ペプチドNo.11の単独投与群ではネガティブコントロールと比べてL値はほぼ等しかつ

た。尚、図3において、\*\*はPBS群におけるマウスに対し、危険率1%未満で有意差が有ることを示すものである。

#### 【0045】（3）皮膚組織観察結果

各群マウスにおける投与部位の切片組織を染色した写真を、図4に示す。図4中、上から、PBS投与のマウス群、FGF-5投与のマウス群、FGF-5+No.11投与のマウス群、No.11投与のマウス群の結果を示す。また、図4中、スケールバーは1000 $\mu$ mである。観察結果を、表2にまとめた。

#### 【0046】

##### 【表2】

表2

群	組織観察結果
PBS	9例中、9例とも毛包が長かった。
FGF-5	10例ともネガティブコントロールよりも明らかに毛包成長が抑制されていた。

FGF-5+No.11 10例中6例でポジティブコントロールよりも毛包成長が進んでいたが、ネガティブコントロールよりは抑制されていた。4例はポジティブコントロールと差がなかった。

No.11 10例ともネガティブコントロールと差がなかった。

#### 【0047】(4) 毛包の長さ測定

各群マウスにおける組織切片の染色写真における毛包の長さを測定した結果を図5に示す。ネガティブコントロール(PBS投与群)に比べて、ポジティブコントロール(FGF-5投与群)では有意に毛包が短く、FGF-5が毛成長を抑制していることを確認した。

【0048】FGF-5+ペプチドNo.11の混合投与群では、ポジティブコントロールに比べて有意に毛包が長いことが確認された。また、ペプチドNo.11の単独投与群ではネガティブコントロールと比べて毛包の長さはほぼ等しかった。尚、図5において、\*\*はPBS群におけるマウスに対し、危険率1%未満で有意差があることを示すものである。

#### 【0049】(5) まとめ

以上のように、肉眼での投与部位の皮膚色観察や投与部位の組織切片の観察の結果から、FGF-5と部分ペプチドNo.11の混合物を注射した場合には、FGF-5のみを注射したポジティブコントロールより皮膚の黒化がやや進み、毛包がやや長くなることが確認できた。また、このことはL値測定、毛包の長さ測定の結果からも確認できた。

これらの結果から、ペプチドNo.11はFGF-5の毛成長阻害を抑制する作用を持つことが示された。尚、ペプチドNo.11単独では毛成長に影響を与えないことから、ペプチドNo.11は単独では毛成長を促進する効果はないが、FGF-5のアンタゴニストとして働いてFGF-5の毛成長阻害を抑制したものと考えられる。

【0050】尚、実験期間中にマウスの体重に大きな変化はなかったことから、FGF-5も部分ペプチドもマウスの健康状態には影響していないものと判断できる。

#### 【0051】

【発明の効果】本発明により、FGF-5の部分ペプチドであって、FGF-5のBALB/c-3T3細胞増殖作用をアンタゴナイズするポリペプチドの中に、FGF-5の毛成長に対する抑制作用を阻害する活性を示すポリペプチドが見出された。本発明のポリペプチドを含有した育毛剤は、実効性に富み、特にFGF-5が原因で毛の成長が抑制されている人にとって、好適に使用し得る育毛剤となる。

#### 【0052】

#### 【配列表】

#### SEQUENCE LISTING

<110> POLA CHEMICAL INDUSTRIES, INC.

Director-General of National Institute of Advanced Industrial Science and Technology.

<120> 育毛剤

<130> P-8384

<140>

<141> 2001-03-30

<160> 3

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 1

Val Gly Ile Gly Phe His Leu Gln Ile Tyr

1

5

10

#### 【0053】

<210> 2

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer (sense)

<400> 2

cggaattcca tatgggtgaa aagcgtctcg cccccaaa

38

【0054】

<210> 3

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer (anti-sense)

<400> 3

cgccatatgt ttatccaaag cgaaactt

28

【図面の簡単な説明】

【図1】 マウスの試料投与部位の組織切片の光学顕微鏡写真。

【図2】 各試料投与群マウスの背部の写真。上から、PBS投与マウス、FGF-5投与マウス、FGF-5+No.11投与マウス、No.11投与マウスである。

【図3】 各試料投与群マウスにおける投与部位の色差

計による明度の測定結果を示す図。

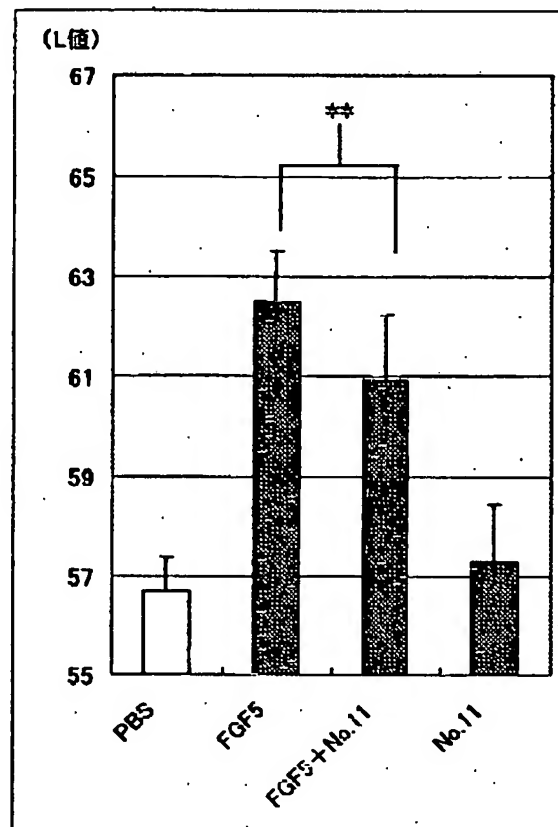
【図4】 各試料投与群マウスにおける投与部位の組織切片の顕微鏡写真。上から、PBS投与マウス、FGF-5投与マウス、FGF-5+No.11投与マウス、No.11投与マウスである。

【図5】 各試料投与群マウスにおける投与部位の平均毛包長の測定結果を示す図。

【図1】

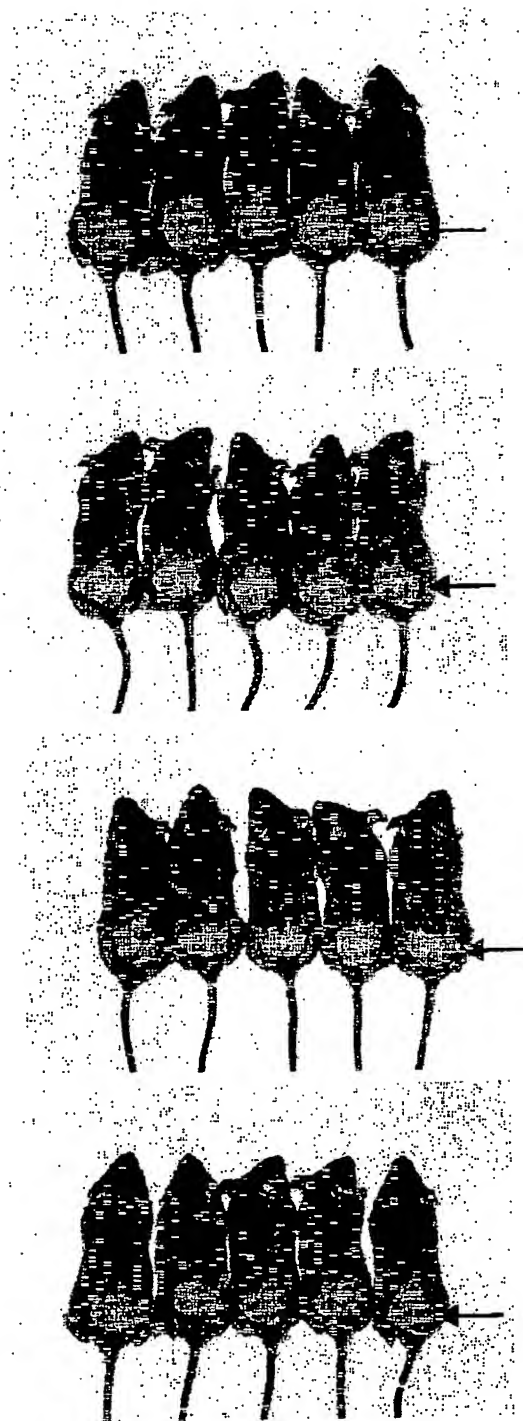


【図3】



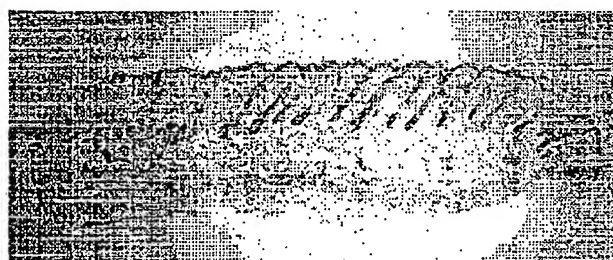
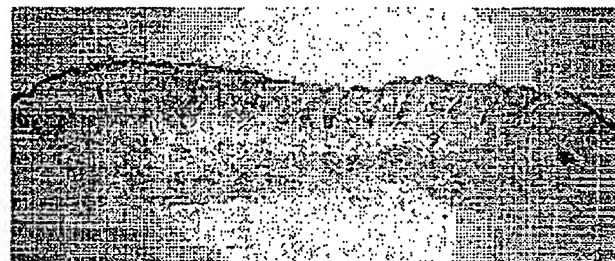


【図2】

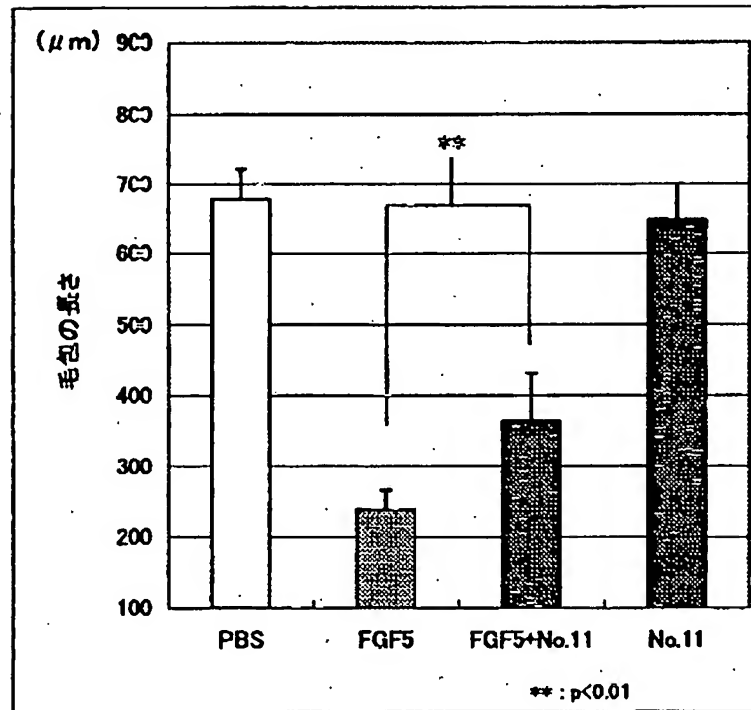


【図4】

Scale:1000 $\mu$ m



【図5】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup> (C12N 15/09 C12R 1:19)	識別記号 ZNA	FI C12N 15/00	(参考) ZNAA
(72)発明者 山崎 幸苗 茨城県つくば市東1丁目1番3 経済産業 省産業技術総合研究所 生命工学工業技術 研究所内		(72)発明者 山本 幸織 茨城県稲敷郡江戸崎町椎塚123-38	
(72)発明者 今村 亨 茨城県つくば市東1丁目1番3 経済産業 省産業技術総合研究所 生命工学工業技術 研究所内		(72)発明者 鈴木 聡 神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560番地ボー ラ化成工業株式会社戸塚研究所内	
(72)発明者 伊藤 千嘉子 茨城県竜ヶ崎市の小柴3-9-8		(72)発明者 齊藤 優子 神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560番地ボー ラ化成工業株式会社戸塚研究所内	
(72)発明者 藤田 康子 茨城県つくば市千現1-5-5 片桐ハイ ツ102		Fターム(参考) 4B024 AA01 BA80 CA04 DA06 EA04 GA11 GA19 4C083 AD411 CC37 EE22 FF01 4C084 AA02 BA01 BA08 BA17 CA18 CA23 DB54 NA14 ZA922 4H045 AA30 BA15 CA40 EA20 FA34 FA74 GA26	